

INSTRUÇÕES DE USO

XGEN MULTI IST

KIT MULTIPLEX PARA DETECÇÃO DE PATÓGENOS RESPONSÁVEIS POR INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS (IST)

1. FINALIDADE E MODO DE USO

O kit XGEN MULTI IST é um teste *in vitro* para a detecção qualitativa de ácido nucleico em amostras de swabs e urina como um auxílio na identificação e diferenciação de infecções por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*.

O kit foi otimizado para uso no aparelho de PCR em Tempo Real ABI 7500 (*Software Sequence Detection System® Applied Biosystems™*).

PRODUTO PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

1. 1 INTRODUÇÃO

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) representam um grupo de doenças que afetam a saúde sexual e reprodutiva de milhões de pessoas, sendo um problema público de interesse. Os agentes causadores de ISTs incluem fungos, bactérias, parasitas e vírus. Alguns desses microrganismos são eliminados após um período pelo próprio sistema imune do portador, enquanto outros são recorrentes. Muitas vezes, alguns permanecem no corpo de forma assintomática, o que aumenta a chance de transmissão, além de favorecer o progresso da doença, podendo haver o desenvolvimento de inflamações do trato gênito-urinário, infertilidade e até mesmo o desenvolvimento de câncer.

A infecção por *Chlamydia trachomatis* (CT) é a IST mais prevalente do mundo. Existem 18 sorotipos de *C. trachomatis*: D-K são os que causam infecções sexualmente transmissíveis, bem como infecções neonatais. A maioria das infecções genitais por clamídia em homens e mulheres é assintomática. Quando os sintomas ocorrem, a infecção do trato urogenital inferior pode se manifestar como cervicite em mulheres e uretrite em ambos os sexos. Seja sintomática ou assintomática, a clamídia não tratada pode ascender ao trato genital superior. Nos homens, isso pode causar epididimite, que não é considerada uma causa importante de sequelas a longo prazo. No entanto, nas mulheres, a infecção do trato superior pode resultar em doença inflamatória pélvica (DIP), um espectro de distúrbios clínicos que envolvem infecção e inflamação do útero, tubas uterinas, ovários e peritônio adjacente.

Neisseria gonorrhoeae (NG) é o agente etiológico da gonorreia. As síndromes associadas à gonorreia incluem cervicite em mulheres e uretrite, faringite e proctite em ambos os sexos. Se não tratadas, as mulheres podem sofrer sequelas graves de doença inflamatória pélvica, dor pélvica crônica, gravidez ectópica e infertilidade, enquanto os homens podem desenvolver epididimite, prostatite e estenose uretral.

Mycoplasma genitalium (MG) é um organismo anaeróbico facultativo e uma causa reconhecida de uretrite não-gonocócica em homens. Nas mulheres, o *M. genitalium* tem sido associado a cervicite, endometrite, doença inflamatória pélvica (DIP), infertilidade, suscetibilidade ao HIV e resultados adversos ao nascimento, indicando uma relação consistente com a patologia do trato genital feminino. As consequências reprodutivas a longo prazo da infecção por *M. genitalium* em indivíduos assintomáticos precisam de maiores investigações.

A infecção por *Trichomonas vaginalis* (Tvag) é uma das ISTs mais comuns no mundo. *T. vaginalis* é um protozoário flagelado, localizado principalmente no trato urogenital masculino e feminino, mas já foi identificado no trato respiratório de bebês e adultos. Nas mulheres, pode

ser encontrado na vagina e uretra, enquanto nos homens, na uretra, próstata e epidídimo. A infecção por *T. vaginalis* tem sido associada à vaginite, cervicite e uretrite, ruptura prematura de membranas e parto prematuro em mulheres grávidas. Além disso, *T. vaginalis* também tem sido associado a um risco aumentado de aquisição e transmissão do HIV em mulheres.

O *Mycoplasma hominis* (Mhom) coloniza o trato urogenital inferior e está associado às infecções urogenitais, principalmente vaginose bacteriana e uretrite não-gonocócica. Também está envolvido em infecções extragenitais, como febre pós-parto ou pós-aborto, infecções pós-cesariana ou após uma histerectomia. Em neonatos, pode causar meningite, abscessos cerebrais e infecções oculares. Nos adultos, foram descritas bacteremia, artrite séptica, osteíte, endocardite, mediastinite, abscessos cerebrais e infecções respiratórias. A maioria dos pacientes afetados possui fatores predisponentes, incluindo imunossupressão, trauma, problemas respiratórios e cirurgia do trato geniturinário. É considerada uma bactéria presente na microflora normal em 20% da população masculina e em 40% da população feminina.

Ureaplasma spp. são frequentemente isolados da mucosa genital humana de indivíduos assintomáticos. Nos seres humanos, duas espécies principais, *Ureaplasma parvum* (Uparv) e *Ureaplasma urealyticum* (Urea) fazem parte da flora genital de homens e mulheres e estão presentes em quase 70% da população sexualmente ativa. Essas bactérias causam inflamação e levam a corioamnionite, partos prematuros e ruptura prematura de membranas. Além disso, já foram identificados alguns papéis patogênicos de *Ureaplasma spp.* na espermatogênese e subsequente infertilidade masculina. Embora os portadores masculino e feminino sejam assintomáticos, *Ureaplasma spp.* são ocasionalmente isolados das lesões neonatais de displasia bronco pulmonar, hemorragia intraventricular e enterocolite necrosante.

Por vezes, ISTs causadas por diferentes agentes etiológicos possuem sobreposição de sintomas e direcionamento para tratamentos diferentes. Desta forma, a diferenciação do agente causador é de extrema importância para a orientação ao tratamento mais assertivo.

2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

Os componentes do kit devem ser transportados e armazenados na embalagem original em temperatura de 2°C a 40°C. O produto estocado corretamente é estável até a data de vencimento indicada no rótulo. Após reconstituídos, os componentes MIX IST 1, MIX IST 2, CI e CP IST devem ser armazenados a -20°C. Recomenda-se a realização de alíquotas dos reagentes para evitar ciclos de congelamento/descongelamento.

3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O DNA dos diferentes patógenos presentes na amostra é amplificado no mesmo tubo por meio de uma reação em cadeia da polimerase multiplex. A presença de sequências de DNA específicas dos patógenos na reação é detectada por um aumento na fluorescência observada a partir da sonda correspondente duplamente marcada, e é relatada como o valor limiar de ciclo (Ct) pelo termociclador em Tempo Real.

4. AMOSTRA

4.1 TIPOS

Este ensaio é indicado para uso com ácido nucleico extraído de amostras de *swabs* urogenitais, endocervicais, retal-vaginais e retais, e amostras de urina. Como cada patógeno identificado pelo kit possui afinidade por regiões corporais que podem ser diferentes, para investigação da presença de um patógeno específico, o tipo de amostra utilizada deve ser levado em consideração. O quadro abaixo mostra os patógenos potencialmente detectados de acordo com o tipo de amostra utilizada.

TIPO DE AMOSTRA	PATÓGENOS DETECTÁVEIS
AMOSTRAS UROGENITAIS E ENDOCERVICAIS	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Trichomonas vaginalis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Ureaplasma parvum</i> <i>Mycoplasma hominis</i>
AMOSTRAS RETAIS	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Mycoplasma hominis</i>
AMOSTRAS DE URINA	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Ureaplasma parvum</i> <i>Mycoplasma hominis</i>

Para utilização do kit com amostras não descritas nessa instrução de uso, uma verificação de aplicabilidade deverá ser realizada para confirmar que os requisitos necessários para a finalidade pretendida são atendidos. Em caso de dúvidas, entre em contato conosco pelo e-mail suporte@mobiustlife.com.br.

4.2 CONDIÇÕES PARA COLETA

As amostras clínicas devem ser coletadas em *swabs* secos e armazenadas em tubos do tipo Falcon limpos e processadas o mais rápido possível para garantir a qualidade do teste. É recomendado o uso de amostras frescas.

4.3 MANUSEIO

Para um armazenamento a longo prazo, as amostras devem ser congeladas a -20°C . Nesse caso, a amostra deverá ser totalmente descongelada e levada à temperatura ambiente antes do teste. Se o *swab* foi coletado e armazenado a seco, adicionar de 500 μl a 1 mL de água livre de DNase/RNase, e homogeneizar bem a amostra antes do preparo para extração do DNA. Ciclos de congelamento/descongelamento não são recomendados.

4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO

Prossiga a preparação da amostra de acordo com as recomendações que aparecem nas instruções de uso do kit de extração usado.

Adicionar 5 μL do controle interno ao tampão de lise durante a extração em cada amostra. Nunca adicionar o controle interno diretamente à amostra, a menos que esteja diluída no tampão de lise.

Se o controle interno for usado apenas como controle de inibição da PCR, 1 μl de controle interno deve ser adicionado à mistura de reação reconstituída.

IMPORTANTE: Adicionar o Controle Interno a cada uma das amostras é uma etapa muito importante para confirmar o sucesso do procedimento de extração de ácido nucleico e para verificar possível inibição da PCR.

5. DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E SOFTWARE

O formato padrão do kit contém reagentes para 24 ou 48 testes.

COMPONENTES	CONTEÚDO	QUANTIDADE	
		24 TESTES XG-IST-MB-24	48 TESTES XG-IST-MB-48
MIX IST 1	Mistura de enzima, sondas, <i>primers</i> , tampão e dNTPs em formato liofilizado para detecção de CT, NG, MG e CI	1 frasco	2 frascos
MIX IST 2	Mistura de enzima, sondas, <i>primers</i> , tampão e dNTPs em formato liofilizado para detecção de Tvag, <i>Mhom</i> , Uurea e Uparv	1 frasco	2 frascos
TR	Tampão de Reidratação	1 x 0,9 mL	1 x 1,8 mL
CI	Controle Interno	1 frasco	1 frasco
CP IST	Controle Positivo contendo DNA sintético liofilizado	1 frasco	1 frasco
CN	Controle Negativo	1 x 0,5 mL	1 x 1 mL
H ₂ O	Água livre de RNase/DNase	1 x 0,5 mL	1 x 1 mL
Guia Rápido	Guia Rápido	1 unidade	1 unidade

5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO DOS REAGENTES

5.1.1 MIX IST 1 E MIX IST 2

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo dos tubos. Reconstituir as mix na área pré-PCR do laboratório. Abrir os tubos das mix liofilizadas com cuidado para evitar que o *pellet* se desfaça e adicionar 390 µL do Tampão de Reidratação fornecido no kit. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

AVISO: Após reconstituídas, as Mix IST 1 e 2 podem ser armazenadas a 2 a 8°C por até 4 horas, para longos períodos, armazenar a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de descongelamento/congelamento.

5.1.2 TR

Solução pronta para uso.

5.1.3 CP

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se que o CP seja manipulado em uma área de laboratório separada dos outros componentes do kit, preferencialmente no mesmo local onde as amostras são manipuladas, para evitar a contaminação dos demais componentes do kit. Reconstituir o CP liofilizado em 200 µL da água livre RNase/DNase fornecida no kit.

AVISO: Após reconstituído, o CP deve ser armazenado a -20°C. É recomendado armazenar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento/descongelamento.

5.1.4 CI

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se abrir e manipular o CI na área do laboratório de pré-PCR longe do controle positivo. O CI deve ser reconstituído adicionando 500 µL de Água Livre de RNase/DNase fornecida. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

AVISO: Após reconstituído, o CI deve ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

NOTA: O frasco de Água livre de RNase/DNase deve ser utilizado primeiramente para reconstituir o CI liofilizado na área pré-PCR do laboratório, e em seguida pode ser utilizado para reconstituir o CP em uma área longe dos outros componentes do kit.

5.1.5 CN

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

5.1.6 ÁGUA LIVRE DE RNASE E DNASE

Solução pronta para uso. Antes de utilizar centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

6. ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

✓ Micropipetas (0,5 µL < volume < 1.000 µL);

IMPORTANTE: Devem estar calibradas para distribuir o volume correto necessário para o teste e devem ser submetidas a regulares descontaminações das partes que podem acidentalmente entrar em contato com a amostra. Elas devem ser certificadas e devem estar com seus certificados válidos a fim de mostrar precisão de 1% e exatidão de ± 5%.

✓ Microcentrífuga;

✓ Agitador tipo *vortex* ou similar;

✓ Racks para tubos;

✓ Ponteiras estéreis com filtro;

✓ Microplacas ou microtubos livres de nucleases;

✓ Filme selador óptico;

✓ Luvas descartáveis sem talco;

✓ Cabine de fluxo laminar;

✓ Termociclador para PCR em Tempo Real ABI 7500 (*Software Sequence Detection System*®, Applied Biosystems™) devidamente calibrado conforme orientação do fornecedor.

7. ESTABILIDADE EM USO

Uma vez que CP e CI tenham sido reconstituídos, devem ser armazenados a -20°C. Os componentes MIX IST 1 e MIX IST 2, após reconstituídos, podem ser armazenados de 2 a 8°C por até 4 horas, e para longos períodos, armazenar a -20°C.

É recomendado separar os componentes CP, CI, MIX IST 1 e MIX IST 2 em alíquotas para minimizar os ciclos de descongelamento/congelamento. Esses componentes são estáveis por até 6 ciclos de congelamento/descongelamento.

8. ORIENTAÇÕES GERAIS

- O produto destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório qualificado e treinado na manipulação de reagentes de biologia molecular e qualificados em protocolos de amplificação de PCR em Tempo Real.
- Todo o pessoal envolvido na execução do teste deve utilizar equipamentos de proteção individual. Além disso, todos devem ser treinados em procedimentos de biossegurança, como recomendado pela legislação em vigor.
- Os responsáveis pelo manuseio de amostras devem ser vacinados contra tétano, difteria, hepatite B e os estabelecidos no PCMSO, de acordo com a Norma Regulamentadora 32.
- Os resíduos gerados durante a utilização do kit devem ser descartados de acordo com as diretrizes e regras de descarte de resíduos químicos e substâncias biológicas do laboratório, conforme legislação em vigor.

9. RECOMENDAÇÕES PARA CONTROLE DE QUALIDADE

- Não utilizar reagentes ou materiais fora da data de validade.
 - Verificar se os componentes líquidos não estão contaminados por partículas visíveis ou grumos. Observar se há ruptura na caixa de transporte e se não há derramamento de líquido dentro da caixa.
 - Ligar o termociclador, verificar as configurações e conferir se o protocolo de ensaio está correto.
 - Seguir estritamente o manual do equipamento fornecido pelo fabricante para a correta configuração do termociclador em Tempo Real.
 - Não trocar os componentes entre diferentes lotes do produto. Recomenda-se que os componentes entre dois kits do mesmo lote também não sejam trocados.
 - O ambiente do laboratório deve ser controlado, a fim de evitar contaminantes.
 - Utilizar ponteiros descartáveis, trocando-as após a manipulação de cada reagente para evitar contaminações cruzadas. Da mesma forma, trocar as ponteiros após a manipulação de cada amostra.
 - O fluxo de trabalho no laboratório deve proceder de maneira unidirecional, iniciando com o preparo dos reagentes (pré-PCR), passando para a extração de amostras (pré-PCR) e finalizando nas áreas de amplificação e de análises de dados (pós-PCR). Não compartilhar reagentes e equipamentos entre as diferentes áreas.
- IMPORTANTE:** A circulação de pessoas e equipamentos provenientes da área de amplificação para a área de preparo de reagentes deve ser evitada fortemente, para que não haja a contaminação das áreas pré-PCR com material amplificado.
- Recomenda-se a descontaminação regular de equipamentos comumente utilizados, especialmente micropipetas e superfícies de trabalho.

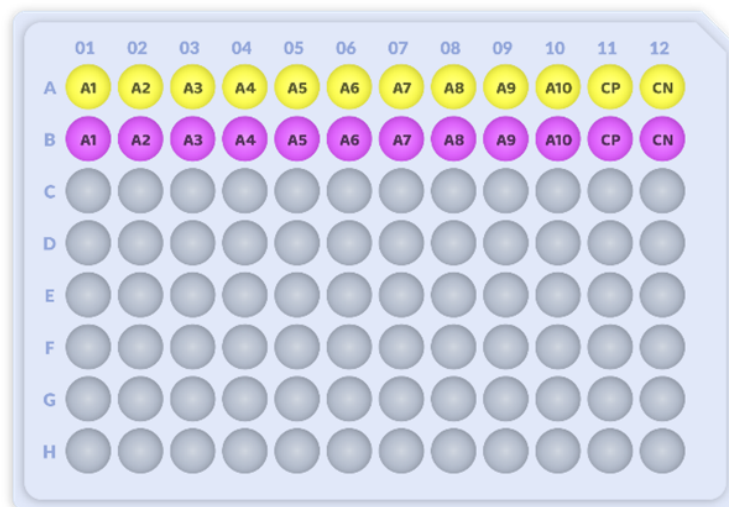
10. CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

10.1 CONTROLES DE AMPLIFICAÇÃO

É obrigatório validar cada sessão de amplificação com reações de Controle Negativo e Controle Positivo. Além disso, o Controle Interno (CI) adicionado em cada amostra confirma o desempenho correto da técnica.

10.2 PREPARAÇÃO DA MIX DE AMPLIFICAÇÃO

- Adicionar 15 µL da MIX IST 1 e 15 µL da MIX IST 2 em seus respectivos poços, de acordo com o número de reações necessárias, incluindo amostras e controles.
- Adicionar 5 µL de DNA extraído de cada amostra, controle positivo reconstituído ou controle negativo em seus respectivos poços e fechar a placa/microtubos.
- Centrifugar brevemente a placa/microtubos.
- Colocar a placa/microtubos no equipamento.
- Após configurar a programação como descrito no subitem 10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR e 10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES, iniciar a corrida no termociclador.



Exemplo de gabarito para posicionamento das amostras e reagentes na placa de PCR

LEGENDA:

- A1 - A10: Amostras
- CP: Controle Positivo
- CN: Controle Negativo
- FUNDO AMARELO: MIX IST 1
- FUNDO ROSA: MIX IST 2

10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR

A programação deve ser feita conforme descrito abaixo. Configurar o equipamento com a correta programação da PCR seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

ETAPA	TEMPERATURA	TEMPO	NÚMERO DE CICLOS
Hold	95 °C	2 min	1
Ciclo da PCR	95 °C	10 s	45
Coleta de dados	60 °C ()	50 s	

10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES

Selecionar os detectores informados na tabela abaixo, conforme o manual de instrução do equipamento a ser utilizado. Alterar as configurações para selecionar o canal ROX como detector (por padrão o ROX é configurado como referência passiva).

MIX	ALVO	REPORTER
MIX IST 1	<i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)	FAM
	<i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)	VIC
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)	ROX
	CI	CY5
MIX IST 2	<i>Trichomonas vaginalis</i> (Tvag)	FAM
	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (Uurea)	VIC
	<i>Ureaplasma parvum</i> (Uparv)	ROX
	<i>Mycoplasma hominis</i> (Hhom)	CY5

10.5 CONFIGURAÇÕES PRÉ-ANÁLISE

É necessária a realização de ajuste de configuração para avaliação dos parâmetros de validação da corrida. Recomenda-se definir os valores de limite (*threshold*) para cada canal (alvo) independentemente. Use a curva de amplificação do controle positivo como ponto de partida durante a validação da execução (antes da interpretação de resultados amostrais do paciente), a fim de garantir que os limites estão dentro da fase exponencial das curvas de fluorescência e acima de qualquer sinal de fundo (*background*).

10.6 VALIDAÇÃO DA CORRIDA

Uma verificação nos controles é realizada sempre que o kit é utilizado a fim de verificar se os valores de Ct são os esperados e informados na tabela abaixo.

ABI SDS 7500			
CRITÉRIO	ALVOS	CONTROLE INTERNO	RESULTADO DO ENSAIO
CONTROLE NEGATIVO	Ct Indeterminado/Não detectado	Ct Determinado/Detectado	Válido
	Ct Determinado/Detectado ¹	Ct Determinado/Detectado	Inválido
	Ct Indeterminado/Não detectado	Ct Indeterminado/Não detectado	Inválido
CONTROLE POSITIVO	Ct Determinado/Detectado ^{2,3}	Ct Indeterminado/Não detectado	Válido
	Ct Indeterminado/Não detectado ^{2,3}	Ct Indeterminado/Não detectado	Inválido
	Ct Indeterminado/Não detectado ^{2,3}	Ct Determinado/Detectado	Inválido

¹ Se existir potencial contaminação (aparecimento de curva de amplificação no controle negativo ou conjunto de curvas em amostras com Ct alto), os resultados obtidos não são interpretáveis e toda a corrida (incluindo extração) deve ser repetida.

² Todos os alvos nos Controles Positivos devem exibir traço positivo (exponencial) de amplificação.

³ As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos apresentam aspectos diferentes.

Se todos os controles estiverem dentro das especificações, validando a corrida, checar as amostras clínicas.

10.7 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

O usuário deve realizar uma análise cuidadosa no gráfico de amplificação para cada amostra e para todos os alvos, para confirmar a presença ou ausência do traço exponencial. Analisar os resultados das amostras como descrito na tabela a seguir.

ABI SDS 7500			
CRITÉRIO	ALVOS	CONTROLE INTERNO	RESULTADO DO ENSAIO
AMOSTRA	Ct < 40 ¹	Ct Determinado/Detectado	Positivo Válido
	Ct ≥ 40 ou Indeterminado/Não detectado	Ct Determinado/Detectado	Negativo Válido
	Ct < 40 ¹	Ct Indeterminado/Não detectado ²	Positivo Válido

	Ct \geq 40 ou Indeterminado/Não detectado	Ct Indeterminado/Não detectado ²	Inválido
--	---	---	----------

¹ As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos apresentam aspectos diferentes.

² Todos os Controles Internos devem apresentar traço positivo (exponencial) de amplificação. Caso não haja amplificação do Controle Interno pode haver problemas de purificação ou amostra fortemente positiva.

11. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES E LIMITAÇÕES

Recomenda-se a leitura cuidadosa e a compreensão da Instrução de Uso. A adesão estrita ao protocolo é necessária para a obtenção de resultados confiáveis.

A coleta apropriada da amostra, bem como procedimentos adequados de transporte, armazenamento e processamento de amostras e kits, a pipetagem dos reagentes, a aplicação do fluxo de trabalho correto, juntamente com a etapa da programação cuidadosa do termociclador, são essenciais para resultados precisos e reprodutíveis. Modificações nesses procedimentos podem alterar o desempenho do teste.

O desempenho deste kit foi avaliado para uso apenas com material de amostra humano. Embora este ensaio possa ser usado com outros tipos de amostras, ele é indicado apenas com DNA extraído de amostras urogenitais e amostras endocervicais, retais (amostras retal-vaginais e amostras retais) e de urina. Testes de outros tipos de amostra podem levar a resultados imprecisos. Outros tipos de amostra não foram validados.

Este kit tem por finalidade o uso qualitativo e não fornece um valor quantitativo para os patógenos detectados na amostra. Não há correlação entre os valores de Ct obtidos e a quantidade de patógenos na amostra coletada.

Níveis baixos de bactérias podem ser detectados abaixo do limite de detecção, mas os resultados podem não ser reprodutíveis.

Este teste não se destina a substituir nenhum exame médico realizado por um profissional. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com outros achados laboratoriais e clínicos (história clínica, dados epidemiológicos ou outros dados).

A falha ou sucesso terapêutico não pode ser determinado com este kit, pois o DNA do patógeno pode persistir mesmo após a terapia antimicrobiana apropriada. A detecção do alvo do patógeno não implica que o patógeno correspondente seja infeccioso ou seja a causa dos sintomas clínicos.

A prevalência de infecção em uma população pode afetar as características de desempenho. Um resultado positivo, em uma população com baixa prevalência dessas bactérias, deve ser interpretado com cuidado.

Mutações podem ocorrer com pouca frequência nas regiões altamente conservadas dos alvos detectados pelo kit XGEN MULTI IST. Como resultado, a combinação de *primer* e sonda pode falhar na detecção da presença do alvo. A validade e o desempenho do design do ensaio são revisados regularmente em caso de mutações e novas cepas.

12. DESEMPENHO

12.1 SENSIBILIDADE

A sensibilidade analítica é a capacidade de um método analítico obter resultados positivos frente a resultados positivos obtidos pelo método de referência, até a menor quantidade do analito que pode ser mensurada. O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade de cópias do alvo que pode ser detectada pelo sistema de ensaio com uma probabilidade de 95%. A sensibilidade do kit XGEN MULTI IST para cada um dos alvos está na tabela a seguir.

PATÓGENO/ALVO	SENSIBILIDADE (LOD)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 cópias/μl
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10 cópias/μl
<i>Mycoplasma genitalium</i>	10 cópias/μl
<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 cópias/μl
<i>Mycoplasma hominis</i>	10 cópias/μl
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	10 cópias/μl
<i>Ureaplasma parvum</i>	10 cópias/μl

12.2 ESPECIFICIDADE

Já a especificidade analítica é a capacidade de um método analítico de determinar somente o analito frente a outras substâncias presentes na amostra. A especificidade do kit XGEN MULTI IST foi confirmada por um painel de testes composto por diferentes microrganismos que representam os patógenos mais comuns da flora entérica e geniturinária.

Nenhuma reação cruzada foi detectada entre qualquer um dos seguintes microrganismos testados: *Acinetobacter baumannii*, *Aspergillus fumigatus*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, Cytomegalovírus, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* 0.1285; O18:H7:K1, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus influenzae* MinnA, *Haemophilus ducreyi* classe 1, Herpes simplex vírus 1, Herpes simplex vírus 2, Papilomavírus Humano genótipo 16, Papilomavírus Humano genótipo 18, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Treponema pallidum*.

ALVO	ESPECIFICIDADE
CT	100% para <i>Chlamydia trachomatis</i>
NG	100% para <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
MG	100% para <i>Mycoplasma genitalium</i>
Tvag	100% para <i>Trichomonas vaginalis</i>
Mhom	100% para <i>Mycoplasma hominis</i>
Uurea	100% para <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Uparv	100% para <i>Ureaplasma parvum</i>

12.3 EXATIDÃO

Não aplicável.

12.4 PRECISÃO

O ensaio de precisão foi realizado através do resultado de um mesmo analito medido diversas vezes sob mesmas condições operacionais (repetibilidade) e sob condições operacionais distintas (reprodutibilidade). O resultado pode ser visualizado através do coeficiente de variação (CV%). Assim, os resultados foram estabelecidos conforme tabela abaixo.

CRITÉRIO	RESULTADO
Repetibilidade	CV% < 5%
Reprodutibilidade	CV% < 5%

13. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

14. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

15. REQUISITOS

Profissional com conhecimentos em biologia molecular.

16. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Se um ou mais dos problemas descritos na tabela abaixo forem recorrentes, deve-se realizar uma investigação e para que se tomem ações a fim de evitá-los.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUÇÃO
CONTROLE POSITIVO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	Configuração incorreta da programação da PCR no equipamento.	Verificar se a configuração está de acordo com a instrução de uso.
	Configuração incorreta da reação de PCR.	Verificar as etapas de trabalho por meio do esquema de pipetagem e repetir o procedimento, se necessário. Checar a calibração das micropipetas.
	Manuseio incorreto dos controles positivos.	Homogeneizar os controles adequadamente.
	Condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não estão de acordo com a instrução de uso ou a data de validade do kit expirou.	Checar as condições de armazenamento e a data de validade dos reagentes e repetir o procedimento, se necessário.
CONTROLE INTERNO COM SINAL FRACO OU SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	As condições da PCR não cumprem o protocolo.	Verificar as condições da PCR e repetir o procedimento de acordo com a instrução de uso, se necessário.
	A PCR foi inibida.	Verificar se o método de extração utilizado é compatível com o kit. Sinal positivo muito forte de um alvo pode, por vezes, inibir a fluorescência do Controle Interno.
CONTROLE NEGATIVO COM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	Contaminação durante a extração ou durante a preparação da PCR.	Repetir a PCR com novos reagentes em replicatas.
		É recomendado realizar a pipetagem do Controle Positivo após todos os outros reagentes.

		Certificar-se de que o local de trabalho e os instrumentos são descontaminados em intervalos regulares.
--	--	---

IMPORTANTE: Interpretação dos resultados deve ser feita por profissionais devidamente treinados e habilitados para reduzir o risco de erros e resultados mal interpretados. Quando os resultados do laboratório são transmitidos do laboratório para o centro de informática, deve-se prestar muita atenção para evitar erro na transferência de dados.

17. ALERTAS E PRECAUÇÕES

Não aplicável.

18. GARANTIA

A Mobius Life Science fornece garantia de todos os produtos por ela revendidos.

O produto XGEN MULTI IST é garantido pela Mobius contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

18.1 EXCEÇÕES NA GARANTIA

- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.

18.2 EXTINÇÃO DA GARANTIA

- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

19. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE LEGAL

Mobius Life Science Indústria e Comércio de Produtos para Laboratórios Ltda

Rua Jandaia do Sul 441 - Pinhais - PR - CEP: 83.324-440

Telefone: (41) 3401-1850 | 0800-7101850

E-mail: suporte@mobiuslife.com.br | Website: www.mobiuslife.com.br

CNPJ: 04.645.160/0001-49

20. REGISTRO ANVISA

80502070085